

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
 —  
 INSTITUT NATIONAL  
 DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
 —  
 PARIS  
 —

(11) N° de publication :  
 (à utiliser que pour les  
 commandes de reproduction)

2 639 439

(21) N° d'enregistrement national :

88 15110

(51) Int Cl<sup>8</sup> : G 02 B 21/18, 21/36; G 06 F 15/68.

(12)

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 21 novembre 1988.

(30) Priorité :

(43) Date de la mise à disposition du public de la  
 demande : BOPI « Brevets » n° 21 du 25 mai 1990.

(60) Références à d'autres documents nationaux appa-  
 rentés :

(71) Demandeur(s) : CENTRE NATIONAL DE LA RE-  
 CHERCHE SCIENTIFIQUE. — FR.

(72) Inventeur(s) : Henri Dupoisot ; Gérard Daury.

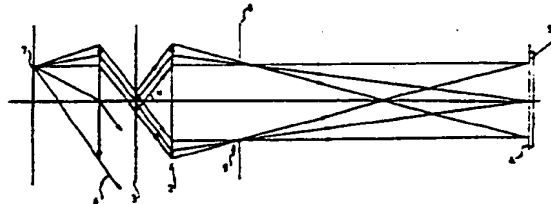
(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire(s) : Bugnion Associés.

(54) Procédé et dispositif de réalisation d'une image microscopique améliorée par synthèse.

(57) L'invention concerne un procédé et un dispositif de réali-  
 sation d'images microscopiques à résolution et contraste amé-  
 liorés. — des images élémentaires produites en éclairage  
 cohérent oblique pour une incidence fixe et des orientations  
 variables, en fond clair d'une part, en fond noir d'autre part.  
 Les images élémentaires sont numérisées, on soustrait pour  
 chaque orientation l'image en fond noir de l'image en fond  
 clair, après adaptation, sectorisation, sommation des transfor-  
 mées de Fourier on effectue la transformée de Fourier inverse  
 et on visualise l'image finage.

Le dispositif de l'invention comporte un microscope optique  
 1. Il comporte un couteau 9 mobile placé dans le plan de la  
 pupille. La position du diaphragme 7 est réglable dans son  
 plan, permettant ainsi le réglage de l'incidence et de l'orienta-  
 tion du faisceau d'éclairage.



FR 2 639 439 - A1

**PROCEDE ET DISPOSITIF DE REALISATION D'UNE IMAGE MICROSCOPIQUE  
AMELIOREE PAR SYNTHESE**

La présente invention concerne un procédé et un dispositif de réalisation d'images microscopiques à résolution et contraste améliorés.

Le fonctionnement du microscope optique appuyé sur les principes fondamentaux de l'optique est bien connu et fait apparaître des limitations fondamentales.

Nous les rappellerons succinctement ci-après afin de situer le contexte de l'invention.

Le système optique est partiellement caractérisé par sa fonction de transfert qui représente la résolution et le contraste des images qu'il produit. Plus précisément la fonction de transfert représente le coefficient de transmission du système optique pour un objet périodique, en fonction de sa période et de son orientation. Nous raisonnerons par la suite sur un système supposé dépourvu d'aberration et présentant une symétrie de révolution autour de son axe optique.

Un système optique fonctionnant en éclairage spatialement incohérent, c'est-à-dire avec une source lumineuse étendue, a une fonction de transfert méridienne approximativement triangulaire. Le coefficient de transmission du système optique varie donc en fonction de la fréquence de l'objet. On montre que la fréquence maximale transmise correspond à deux fois l'ouverture du système, ce qui prend en compte l'existence d'un condenseur avant l'objet.

Un système optique fonctionnant en éclairage spatialement cohérent, c'est-à-dire dont la source lumineuse est quasi-ponctuelle, présente une fonction de transfert méridienne rectangulaire. Son coefficient de transmission est constant et optimal pour toutes les fréquences transmises. La fréquence de coupure correspond à l'ouverture du système optique. Elle est

deux fois plus faible qu'en éclairage incohérent.

L'objectif de la présente invention est de permettre la réalisation d'une image qui présente à la fois les avantages habituellement obtenus en éclairage incohérent, c'est-à-dire une fréquence de coupure égale à deux fois l'ouverture du système optique, et ceux d'un système optique fonctionnant en lumière cohérente, c'est-à-dire une uniformité et une optimisation du coefficient de transmission en fonction de la période de l'objet.

C'est également un but de l'invention que d'obtenir une fonction de transfert qui présente sensiblement la même symétrie de révolution que le système optique, c'est-à-dire une fonction de transfert approximativement indépendante de l'orientation de l'objet dans son plan.

L'amélioration de la résolution et du contraste en microscopie optique étant une préoccupation ancienne, différentes tentatives ont déjà été faites en ce sens par le passé.

Il a, par exemple, été proposé de faire fonctionner un microscope avec une source lumineuse de forme annulaire. Cette disposition permet d'obtenir un meilleur coefficient de transmission des fréquences les plus élevées en éclairage incohérent mais la fonction de transfert ainsi obtenue reste encore très éloignée de la fonction rectangulaire recherchée.

Il a également été constaté que l'observation d'un objet en éclairage cohérent, avec une source décentrée, permet d'améliorer la résolution et le contraste de certains éléments favorablement orientés de l'image, mais cette amélioration est obtenue au détriment de la qualité d'observation des éléments d'orientations différentes.

L'invention concerne un procédé de réalisation d'une image microscopique d'un objet dans lequel on forme des images élémentaires de l'objet au travers d'un microscope optique en éclairage spatialement cohérent, on combine les images élémentaires pour former l'image finale, caractérisée en ce que :

- des images élémentaires sont produites en éclairage oblique pour une incidence fixe et des orientations variables régulièrement réparties autour de l'axe du microscope,
- une image élémentaire est produite pour chaque orientation en fond clair d'une part, en fond noir d'autre part,
- les images élémentaires sont numérisées,
- on soustrait pour chaque orientation l'image en fond noir de l'image en fond clair pour obtenir des images intermédiaires, de façon à s'affranchir de la contribution des termes quadratiques,
- on effectue la transformée de FOURIER des images intermédiaires obtenues pour chaque orientation,
- on adapte les transformées de FOURIER des images intermédiaires relativement les unes aux autres de façon à réaliser l'égalisation énergétique moyenne des parties symétriques du spectre.
- on sectorise les transformées de FOURIER ainsi obtenues de façon à éviter la redondance des contributions des images pour certaines zones du plan de la transformée de FOURIER,
- on additionne les transformées de FOURIER sectorisées,
- on effectue la transformée de FOURIER inverse de cette somme pour obtenir l'image finale recherchée,
- on visualise l'image finale.

L'invention concerne également un dispositif d'imagerie microscopique comportant un microscope optique, un récepteur, une unité de traitement d'images permettant la réalisation d'une image finale de synthèse à partir d'images élémentaires successivement produites par le microscope. Le microscope comporte un condenseur et un diaphragme trou quasi-ponctuel placé à l'entrée de celui-ci et assurant la cohérence spatiale du faisceau d'éclairage. Selon l'invention, la position du diaphragme est réglable dans son plan ce qui permet le réglage de l'incidence et de l'orientation du faisceau d'éclairage, les images élémentaires étant obtenues à partir du même objet placé dans le plan objet du microscope, pour des incidences et des orientations variables du faisceau d'éclairage, alternativement sur fond clair et sur fond noir.

De préférence, les images élémentaires sont obtenues pour une même incidence, pour des orientations variables également réparties autour de l'axe du microscope. L'unité de traitement effectue la numérisation des images, la soustraction pour chaque orientation du faisceau d'éclairage de l'image en fond noir de l'image en fond clair, la transformée de FOURIER des images intermédiaires ainsi obtenues pour chaque orientation du faisceau d'éclairage, l'adaptation des transformées de FOURIER des images intermédiaires relativement les unes aux autres de façon à réaliser l'égalisation énergétique moyenne des parties symétriques du spectre, la sectorisation des transformées de FOURIER obtenues de façon à éviter les contributions redondantes des images pour certaines zones du plan de la transformée de FOURIER, l'addition des transformées de FOURIER sectorisées, la transformée de FOURIER inverse de la somme obtenue, et la visualisation de l'image résultante.

L'invention sera décrite plus en détail en référence aux dessins dans lesquels :

- La figure 1 représente la fonction de transfert d'un microscope optique à ouverture circulaire 1 ou annulaire 2 respectivement vue en coupe (a) et vu de dessus (b).
- La figure 2 représente la fonction de transfert d'un microscope optique fonctionnant en éclairage spatial cohérent respectivement vue en coupe (a) et vu de dessus (b).
- La figure 3 représente la fonction de transfert d'un microscope optique fonctionnant en éclairage cohérent sous incidence oblique, respectivement vue en coupe (a) et vue du dessus (b).
- La figure 4 représente le schéma de principe d'un microscope optique mis en oeuvre selon l'invention.
- La figure 5 représente la fonction de transfert du dispositif de l'invention selon son premier mode de réalisation.
- La figure 6 représente la fonction de transfert du dispositif

de l'invention selon un deuxième mode de réalisation.

- La figure 7 représente une vue schématique du traitement des images élémentaires selon l'invention.

Un microscope 1, tel que représenté sur la figure 4 est habituellement composé d'un objectif 2 assurant la conjugaison du plan objet 3 avec le plan image 4 constitué par la surface du récepteur 5. Il comporte un condenseur 6 assurant l'éclairage de l'objet 3 par une source lumineuse 7. Il comporte également un diaphragme de sortie 8.

Nous supposons par la suite que le condenseur 6 a la même ouverture que l'objectif 2 et que l'objectif 2 ne présente pas d'aberration. L'angle d'ouverture géométrique étant appelé  $\theta_v$ , l'indice d'immersion  $n$ , l'ouverture numérique est  $0_n = n \sin \theta_v$ . Lorsqu'un tel système optique fonctionne en éclairage incohérent, la fonction de transfert correspond à la formule :

$$M_L(v) = (2\theta_v - \sin 2\theta_v)/\pi \quad \text{AVEC} \quad \theta_v = \arcsin(\lambda v / 2 0_n).$$

En éclairage cohérent normal, la fonction de transfert d'un tel système est :

$$M_{CL}(v) = 1 \quad \text{POUR} \quad v \leq 0_n / \lambda, \quad M_{CL}(v) = 0 \quad \text{AUTREMENT,}$$

$\lambda$  est la longueur d'onde incidente,  $v$  est la fréquence spatiale de l'objet,  $M$  est le facteur de transfert du système optique.

Ces fonctions de transfert sont représentées respectivement sur les figures 1 et 2. En éclairage incohérent  $M$  est une fonction de section méridienne sensiblement triangulaire dans laquelle le coefficient de transmission est une fonction décroissante de la fréquence de l'objet. Sa fréquence de coupure est égale à  $2 (0_n / \lambda)$ .

Au contraire, en éclairage cohérent, toutes les fréquences transmises le sont avec le même coefficient de transmission et la fréquence de coupure est égale à  $O_n/\lambda$ .

Lorsque telle que représentée sur la figure 4, une source quasi ponctuelle est utilisée permettant la réalisation d'un éclairage cohérent et que cette source est décentrée, la fonction de transfert du système conserve la même forme que lorsque la source est centrée mais elle subit une translation correspondant à l'inclinaison de l'éclairage. Dans la situation limite permettant la transmission d'un fond continu depuis la fréquence zéro, sa fréquence de coupure est alors égale à  $2 (O_n/\lambda)$ .

Le microscope comprend un couteau 9, mobile dans le plan de la pupille 8 du microscope, dont l'interposition sur le faisceau permet d'intercepter le flux direct, et ce faisant, d'obtenir des images en fond noir. Au contraire, le retrait de ce couteau permet l'obtention des images en fond clair.

Afin de pouvoir conserver dans la phase finale le bénéfice de la qualité des différentes images obtenues en lumière cohérente pour une incidence donnée et des orientations variables du faisceau d'éclairage, il est nécessaire de restituer l'amplitude et la phase des ondes produites successivement dans ces différentes conditions avant enregistrement.

Jusqu'à présent, il était considéré que cette addition d'amplitudes complexes que l'on réalise au cours de la synthèse n'était pas réalisable car les récepteurs connus, sensibles à l'énergie, ne permettent pas de recueillir une information représentative de l'amplitude et de la phase. Le procédé et le dispositif de l'invention permettent la réalisation de cette addition d'amplitude et donc l'obtention d'une image finale qui présente la même qualité que celle qui pourrait être obtenue avec un système optique ayant pour pupille 18, 20 la somme des pupilles 19a-d, 21a-g au travers desquelles les images élémentaires ont été obtenues (figures 5 et 6).

A cet effet, on réalise au travers du microscope optique i des images élémentaires 10.a-10.j (figure 7). Chacune des images élémentaires en éclairage oblique est produite pour l'incidence maximum permettant la transmission du flux direct. Cela est obtenu lorsque la source quasi ponctuelle éclairant le condenseur 6 est dans une position conjuguée de celle du bord du diaphragme du microscope.

Les différents images élémentaires sont réalisées pour cette même incidence avec des orientations régulièrement réparties autour de l'axe du microscope lequel doit être sensiblement confondu avec celui du condenseur.

L'onde transmise par le microscope pour une source centrée est de la forme :

$$A = \left( \sum_{i=-n}^{-1} a_i e^{j\psi_i} \right) + a_0 + \left( \sum_{i=1}^n a_i e^{j\psi_i} \right),$$

dans laquelle,  $a$  représente l'amplitude et  $\psi$  la phase,  $a_0$  étant l'amplitude du terme central.

Avec une source excentrée, l'amplitude de l'onde est de la forme

$$A_{obl.} = \left[ a_0 + \sum_{i=1}^{2n} a_i e^{j\psi_i} \right] e^{j\theta},$$

puisque l'inclinaison de l'onde lumineuse, tout en supprimant une partie des termes, a introduit un déphasage  $\theta$ .

Le récepteur est sensible à l'énergie reçue qui dans le cas de l'onde oblique est de la forme



$$I_{obl.} = A_{obl.} A_{obl.}^* = a_0 \left[ \left( \sum_{i=1}^{2n} a_i^* e^{-j\varphi_i} \right) + a_0 + \left( \sum_{i=1}^{2n} a_i e^{j\varphi_i} \right) \right] + \sum_{i=1}^{2n} \sum_{k=1}^{2n} a_i a_k^* e^{j(\varphi_i - \varphi_k)}.$$

Selon l'invention, la réalisation d'images élémentaires en fond noir sous la même inclinaison et la même orientation que les images élémentaires correspondantes en fond clair permet de s'affranchir des termes quadratiques.

En effet, l'amplitude de l'onde obtenue en fond noir est donnée par la suppression de  $a_0$  et par conséquent, par la formule :

$$A_{obl.d.f.} = e^{j\varphi} \sum_{i=1}^{2n} a_i e^{j\varphi_i}$$

L'énergie reçue par le récepteur est donc :

$$I_{obl.d.f.} = \sum_{i=1}^{2n} \sum_{k=1}^{2n} a_i a_k^* e^{j(\varphi_i - \varphi_k)}.$$

Et ainsi la soustraction des signaux fournis par le récepteur pour l'image en fond noir de ceux fournis pour l'image en fond clair est représentée par la formule :

$$(I_{obl.} - I_{obl.d.f.})/a_0 = \left( \sum_{i=1}^{2n} a_i^* e^{-j\varphi_i} \right) + \left[ a_0 + \left( \sum_{i=1}^{2n} a_i e^{j\varphi_i} \right) \right].$$

qui comporte donc l'information d'amplitude et de phase de l'onde pour une incidence et une orientation données de l'éclairage.

Ces images résultant de la soustraction, pour chaque orientation, de l'image en fond noir de l'image en fond clair après numérisation de ces images élémentaires, sont appelées ici images intermédiaires 12a-i.

On effectue la transformée de FOURIER des images intermédiaires. On en effectue l'adaptation relative de façon à obtenir une égalisation énergétique moyenne, cette égalisation énergétique étant particulièrement importante pour les parties symétriques du spectre, et pour éviter des discontinuités brutales dans le rendu du spectre.

On sectorise ensuite les transformées de FOURIER 13a-i après adaptation, de façon à éviter la redondance des contributions des images pour certaines zones du plan de la transformée de FOURIER. En effet, certaines zones, particulièrement au voisinage de la fréquence nulle, sont couvertes par deux images élémentaires. En l'absence de sectorisation, ces fréquences auraient une contribution excessive dans l'élaboration de l'image finale.

Chaque transformée de FOURIER 13a-i apporte par sa contribution la transmission des fréquences spatiales de sa zone 19a-d, 21a-g. L'adaptation permet d'assurer le même coefficient de transmission  $M$  quelque soit la zone concernée. La sectorisation permet que les fréquences spatiales des zones de recouvrement de pupilles (22 et 23 par exemple sur la figure 1) aient un poids statistique unique dans la constitution de l'image et soient donc elles aussi transmises avec le même coefficient de transmission que les autres fréquences.

On additionne ensuite les transformées de FOURIER des images intermédiaires sectorisées 14a-g.

On effectue alors la transformée de FOURIER inverse de cette somme 15 ce qui permet d'obtenir l'image finale 16 qui est alors visualisée.

Par cette méthode, on a obtenu une addition des amplitudes complexes des différentes ondes et une juxtaposition des fréquences au niveau de la pupille et donc l'image finale obtenue est celle qui aurait été obtenue au travers d'un microscope optique ayant pour la pupille la somme 18, 20 des pupilles élémentaires 19, 21, avec le même éclairage spatialement cohérent.

La sectorisation de la transformée de FOURIER et des images intermédiaires est une phase importante dans la détermination de la qualité de l'image finale. La pupille de synthèse réalisée par le calcul doit permettre une contribution avec une bonne précision de chacune des fréquences une fois et une seule. La sectorisation qui est un découpage réalisé par le calcul sur le spectre transformé de FOURIER des images intermédiaires doit donc être réalisée avec une bonne précision.

De manière préférée, les images intermédiaires 13a-g obtenues en éclairage cohérent oblique sont combinées avec une image 13i intermédiaire obtenue de manière analogue à partir d'images élémentaires 11i,j en incidence normale.

A cet effet, un couple d'images élémentaires 10i,j est produit en éclairage normal, l'une de ces images 10i étant en fond clair, l'autre 10j en fond noir. Ces images sont numérisées, puis soustraites l'une de l'autre et on effectue la transformée de FOURIER de l'image intermédiaire 12i ainsi obtenue. On additionne cette transformée de FOURIER 13i aux transformées de FOURIER sectorisées 14a-g correspondant aux incidences obliques. L'adaptation sectorielle numérique doit être parfaite. Il ne doit y avoir ni double emploi ni vide créé entre secteurs, que la séparation des secteurs jointifs soit linéaire ou circulaire.

Dans ce mode de réalisation également il est important que chacune des fréquences spatiales contribue une fois et une seule

à l'élaboration de l'image finale. La sectorisation des images élémentaires sous incidence oblique prendra alors en compte la contribution de l'image intermédiaire obtenue en incidence normale.

Le procédé de l'invention permet d'obtenir une image correspondant à une pupille de synthèse 18, 20 sensiblement circulaire dont le rayon est au plus égal à deux fois le rayon de la pupille du microscope optique.

Toutefois, l'angle d'incidence choisi peut être inférieur à l'angle maximum défini plus haut ce qui produira une image correspondant à une pupille de synthèse également circulaire mais d'un diamètre inférieur à deux fois celui de la pupille du microscope optique.

L'obtention d'une pupille de synthèse circulaire suppose un très grand nombre d'images élémentaires. L'expérience a montré que dans la plupart des applications, les images obtenues à partir d'images élémentaires réalisées selon quatre orientations fournissent des informations sensiblement supérieures et apparaissent donc en bien des cas suffisantes.

Pour d'autres applications, la réalisation d'images élémentaires selon six orientations est préférable.

Le dispositif de l'invention comporte un microscope optique 1, un récepteur 5 et une unité de traitement d'images non représentée.

Un diaphragme trou 7 placé à l'entrée du condenseur 6 assure la cohérence spatiale du faisceau d'éclairage. Sa position dans le plan d'entrée du condenseur 6 détermine l'incidence d'éclairage de l'objet et donc la nature de l'image élémentaire produite par le microscope optique. De manière classique, le microscope optique laissant passer le flux direct produit une image dite en fond clair.

Le microscope selon l'invention comporte un couteau 9 dans le plan du diaphragme 8. L'interposition de ce couteau 9 mobile dans

son plan 8 permet l'interception du flux direct et donc la réalisation d'images en fond noir.

Il est également possible d'obtenir l'image en fond noir en adoptant un décentrement maximum du trou source 7 et en jouant sur l'ouverture du diaphragme 8. A partir de la configuration ouverture maximum de ce diaphragme, une légère diminution du diamètre du diaphragme 8 permet l'interception du flux direct et donc l'obtention d'une image sur fond noir. Il est à souligner que cette technique permet la mise en oeuvre du procédé de l'invention, la légère différence produite par le changement de l'ouverture du diaphragme entre l'image en fond noir et l'image en fond clair ne perturbant pas sensiblement la qualité de l'image intermédiaire obtenue.

La réalisation d'images 10j en fond noir en incidence normale nécessite l'interception du flux direct selon cette incidence. Cela peut être obtenu de manière préférée en interposant sur le faisceau une lame à face parallèle transparente portant en son centre un point opaque correspondant à l'image de la source.

L'unité de traitement d'images est en elle-même connue. Les images élémentaires 10a-j peuvent lui être directement fournies à partir d'une caméra constituant alors le récepteur à la sortie du microscope optique 1 ou bien, selon un autre mode de réalisation, le récepteur est une émulsion photographique et l'unité de traitement comporte elle-même des moyens d'analyse d'une telle image.

L'unité de traitement numérise les images élémentaires, effectue pour chaque orientation et chaque incidence, la soustraction de l'image élémentaire en fond noir 11b,d,f,h de l'image élémentaire en fond clair 11a,c,e,g. Après avoir réalisé la transformée de FOURIER de l'image obtenue par différence de l'image en fond clair de l'image en fond noir, elle effectue, soit en exploitant les résultats d'un étalonnage, soit par comparaison des zones redondantes, l'adaptation relative des images intermédiaires de manière à réaliser une égalisation énergétique moyenne de ces images et plus particulièrement des parties symétriques du

spectre, elle effectue alors un découpage de la transformée de FOURIER des images intermédiaires de manière à assurer une et une seule contribution de chacune des fréquences spatiales pour l'élaboration du spectre final. Elle additionne les transformées de FOURIER sectorisées des images intermédiaires, la transformée de FOURIER inverse de l'image de synthèse 15 obtenue produisant ainsi l'image finale 16 qu'elle visualise.

De manière préférée, des images élémentaires 11i,j sont réalisées en incidence normale, l'une en fond clair, l'autre en fond noir, l'unité de traitement effectuant leur numérisation, la soustraction de l'image en fond noir de l'image en fond clair, la transformée de FOURIER de l'image intermédiaire 12i ainsi obtenue et à l'addition de cette transformée de FOURIER 13i avec les transformées de FOURIER sectorisées 14a-g obtenues à partir des images élémentaires sous incidence oblique. Dans ce cas, l'unité de traitement, après avoir réalisé l'adaptation des images intermédiaires, réalise leur sectorisation en prenant en compte la contribution de l'image intermédiaire en incidence normale.

## REVENDICATIONS

1. Procédé de réalisation d'une image microscopique d'un objet dans lequel on forme des images élémentaires de l'objet au travers d'un microscope optique en éclairage spatialement cohérent, on combine les images élémentaires pour former l'image finale, caractérisée en ce que :
  - des images élémentaires sont produites en éclairage oblique pour une incidence fixe et des orientations variables régulièrement réparties autour de l'axe du microscope,
  - une image élémentaire est produite pour chaque orientation en fond clair d'une part, en fond noir d'autre part,
  - les images élémentaires sont numérisées,
  - on soustrait pour chaque orientation l'image en fond noir de l'image en fond clair pour obtenir des images intermédiaires de façon à s'affranchir de la contribution des termes quadratiques,
  - on effectue la transformée de FOURIER des images intermédiaires obtenues pour chaque orientation,
  - on adapte les transformées de FOURIER des images intermédiaires relativement les unes aux autres de façon à réaliser l'égalisation énergétique moyenne des parties symétriques du spectre.
  - on sectorise les transformées de FOURIER ainsi obtenues de façon à éviter la redondance des contributions des images pour certaines zones du plan de la transformée de FOURIER,
  - on additionne les transformées de FOURIER sectorisées,
  - on effectue la transformée de FOURIER inverse de cette somme pour obtenir l'image finale recherchée,
  - on visualise l'image finale.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'un couple d'images élémentaires est produit en éclairage normal, l'une de ces images étant en fond clair, l'autre en fond noir, que ces images élémentaires sont numérisées, soustraites l'une de l'autre, que l'on effectue la transformée de FOURIER de l'image intermédiaire ainsi obtenue, que l'on additionne cette image intermédiaire en

éclairage normal aux images intermédiaires en incidence oblique, la contribution de cette image étant prise en compte pour la sectorisation des images en incidence oblique.

3. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que des images élémentaires en incidence oblique sont produites pour un nombre pair d'orientations sensiblement également réparties autour de l'axe du microscope optique.
4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que des images élémentaires en incidence oblique sont produites pour quatre orientations sensiblement également réparties autour de l'axe du microscope optique.
5. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que des images élémentaires en incidence oblique sont produites pour six orientations sensiblement également réparties autour de l'axe du microscope optique.
6. Dispositif d'imagerie microscopique comportant un microscope optique, un récepteur et une unité de traitement d'images permettant la réalisation d'une image finale de synthèse à partir d'images élémentaires successivement produites par le microscope, le microscope comportant un condenseur et un diaphragme trou quasi ponctuel placé à l'entrée de celui-ci et assurant la cohérence spatiale du faisceau d'éclairage, un couteau mobile placé dans le plan de la pupille permettant la réalisation d'images en fond clair ou en fond noir selon sa position, condenseur caractérisé en ce que la position du diaphragme est réglable dans son plan, permettant ainsi le réglage de l'incidence et de l'orientation du faisceau d'éclairage, les images élémentaires étant obtenues à partir du même objet placé dans le plan objet du microscope pour des incidences et des orientations variables du faisceau d'éclairage, et étant produites, grâce au couteau, alternativement en fond clair et en fond noir.
7. Dispositif selon la revendication 6, caractérisé en ce que



des images élémentaires sont obtenues pour une même incidence, pour des orientations variables également réparties autour de l'axe du microscope, l'unité de traitement effectuant la numérisation des images, la soustraction pour chaque orientation du faisceau d'éclairage de l'image en fond noir de l'image en fond clair, la transformée de FOURIER des images intermédiaires ainsi obtenues pour chaque orientation du faisceau d'éclairage, l'adaptation des transformées de FOURIER des images intermédiaires relativement les unes aux autres de façon à réaliser l'égalisation énergétique moyenne des parties symétriques du spectre, la sectorisation des transformées de FOURIER obtenues de façon à éviter les contributions redondantes des images pour certaines zones du plan de la transformée de FOURIER, l'addition des transformées de FOURIER sectorisées, la transformée de FOURIER inverse de la somme obtenue, et la visualisation de l'image résultante.

8. Dispositif selon la revendication 7, caractérisé en ce que des images élémentaires sont obtenues en incidence normale, l'une en fond clair, l'autre en fond noir, l'unité de traitement effectuant la numérisation de ces images, la soustraction l'une de l'autre, la transformée de FOURIER de l'image intermédiaire ainsi obtenue, et l'addition de cette transformée de FOURIER aux transformées de FOURIER sectorisées obtenues à partir des images élémentaires sous incidence oblique ; la sectorisation des images élémentaires sous incidence oblique ayant pris en compte la contribution des images sous incidence normale.
9. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisé en ce que le récepteur est une caméra directement reliée à l'unité de traitement.
10. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisé en ce que le récepteur est une émulsion photographique, l'unité de traitement comprenant des moyens d'analyse des photographies représentatives des images élémentaires.

1/3

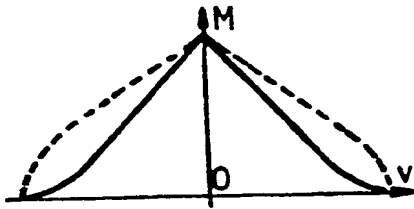
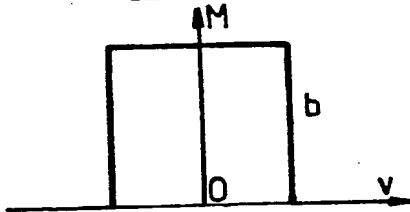
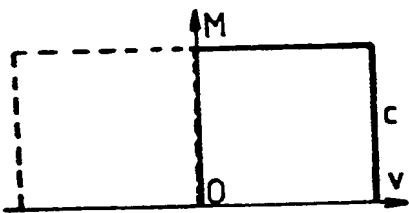
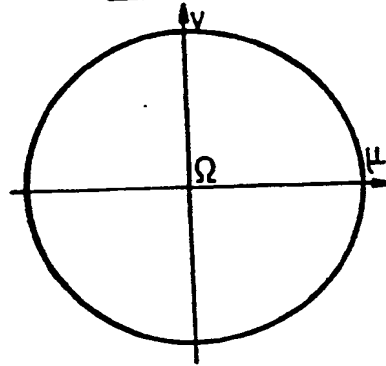
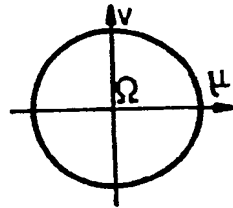
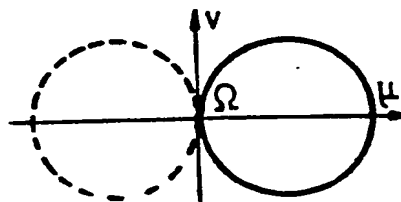
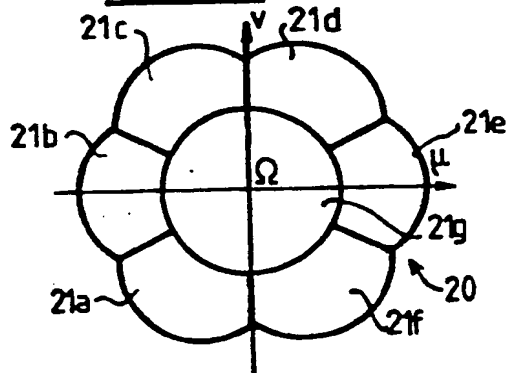
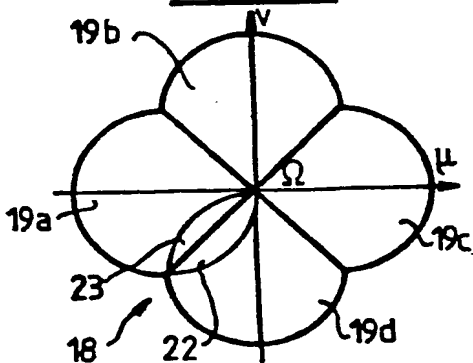
FIG.1aFIG.2aFIG.3aFIG.1bFIG.2bFIG.3bFIG.6FIG.5

FIG. 4

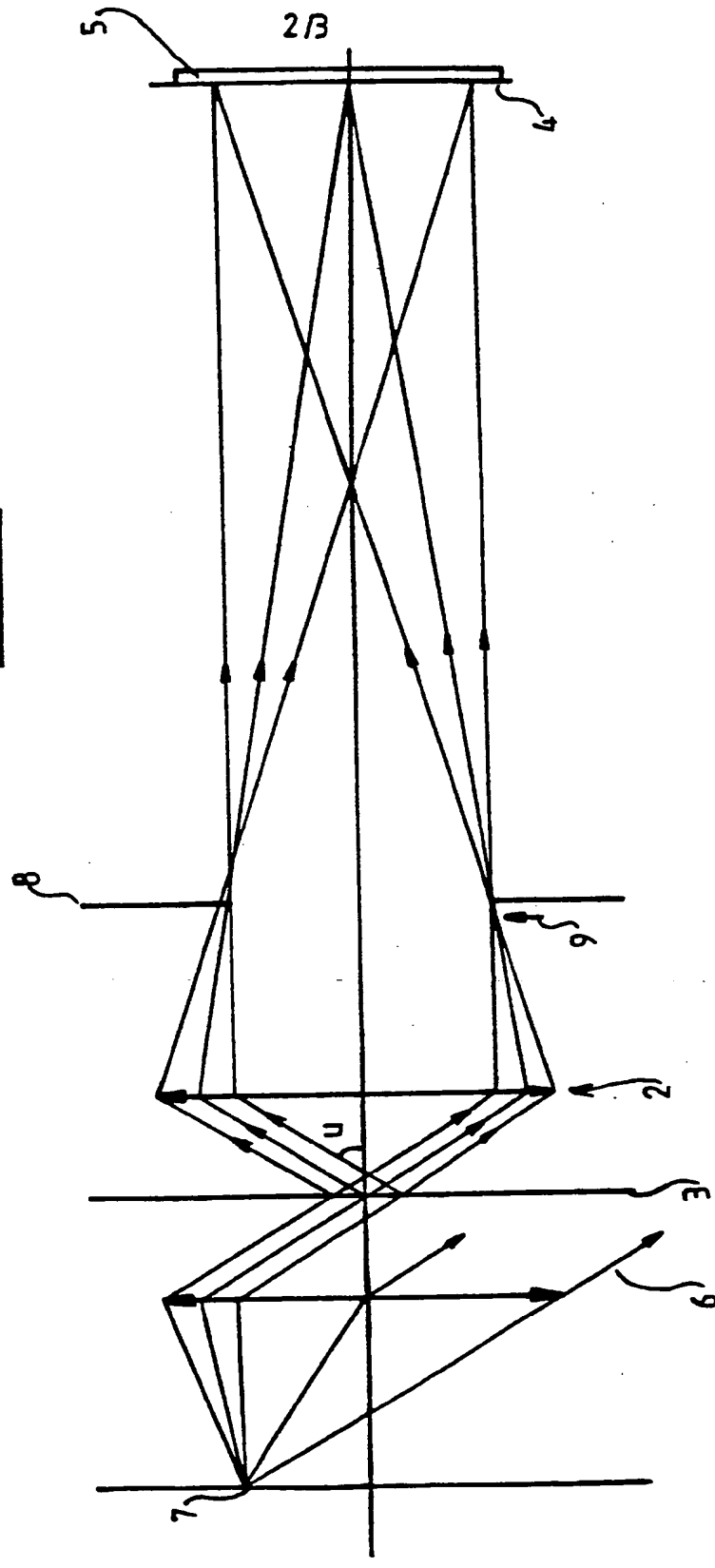
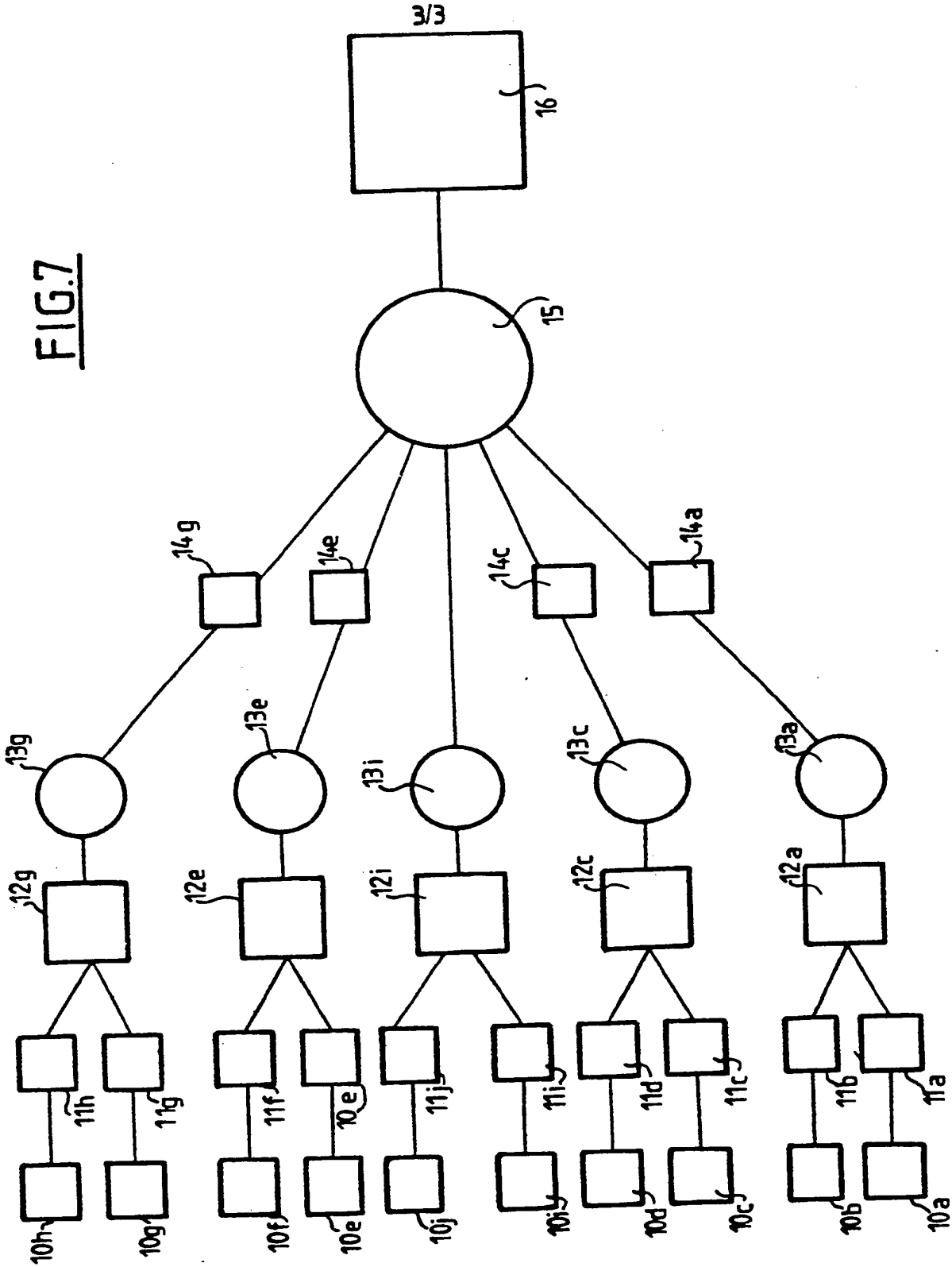


FIG. 7



1/3

FIG.1a

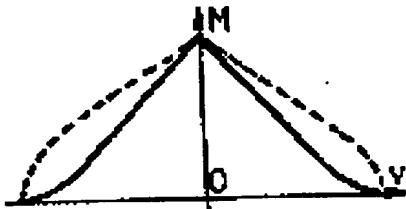


FIG.1b

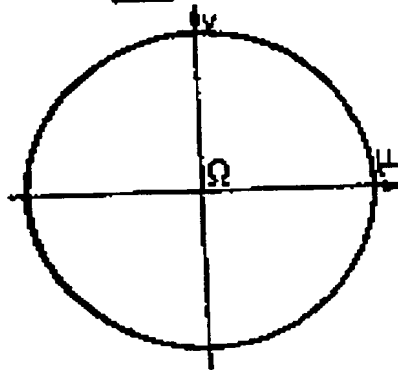


FIG.2a

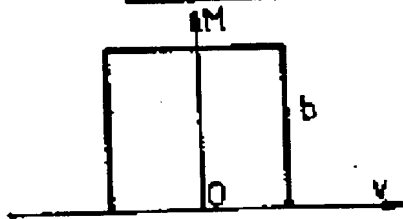


FIG.2b

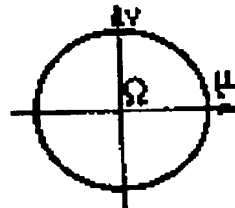


FIG.3a

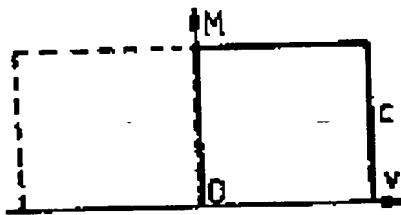


FIG.3b

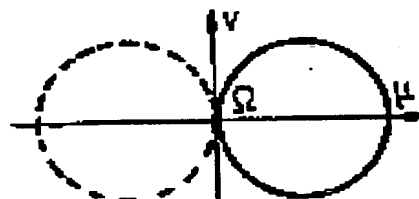


FIG.5

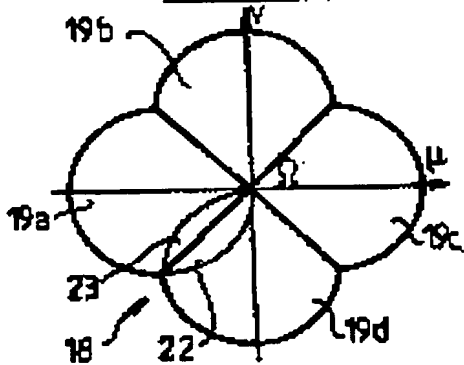
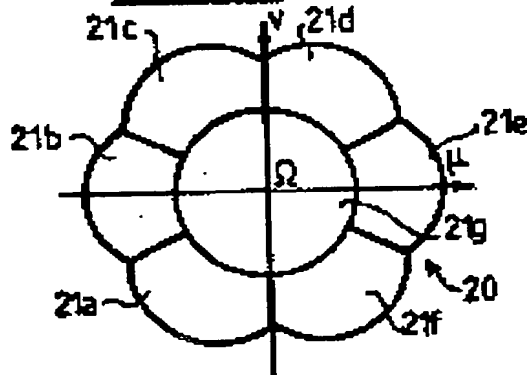


FIG.6



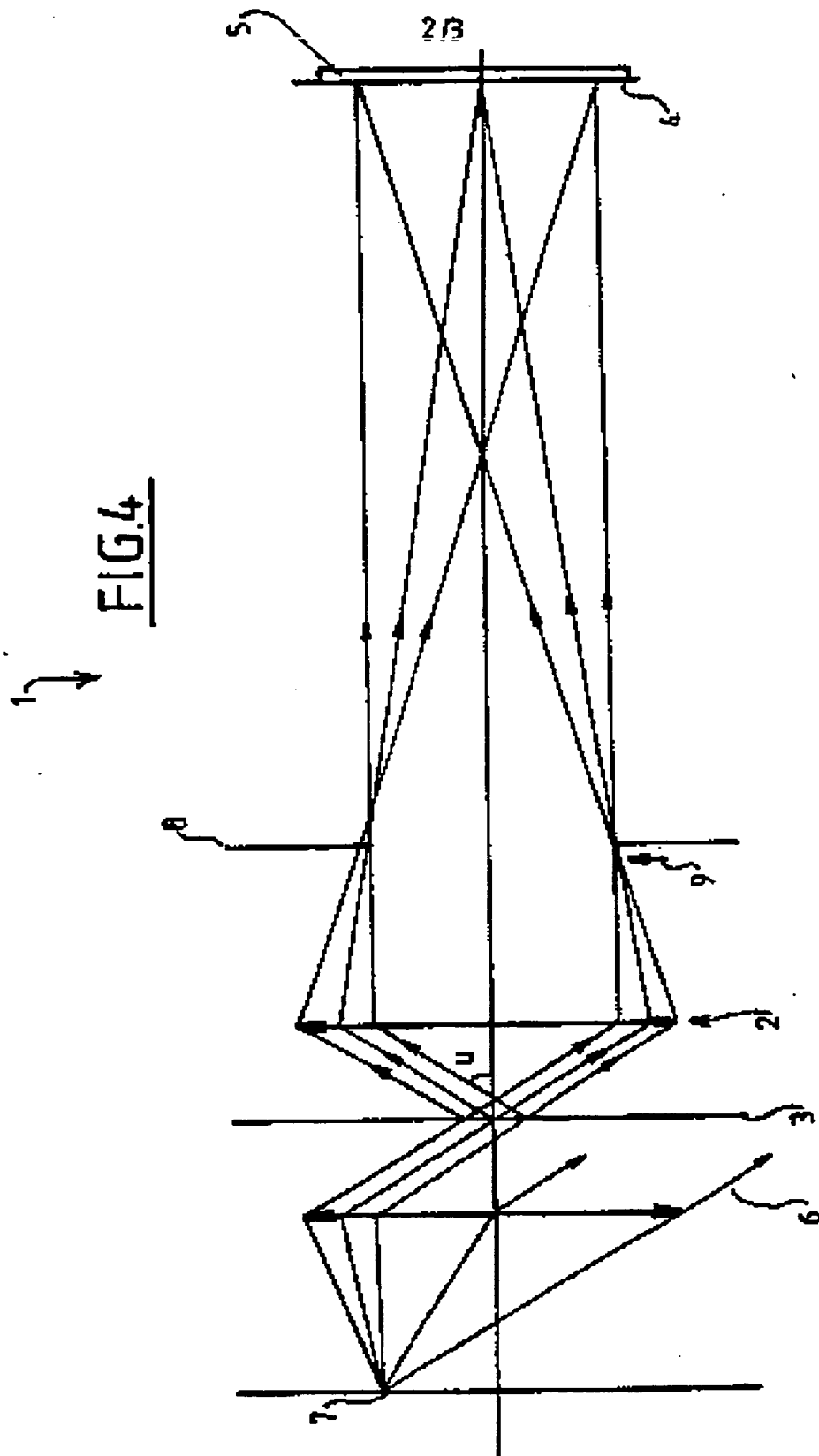
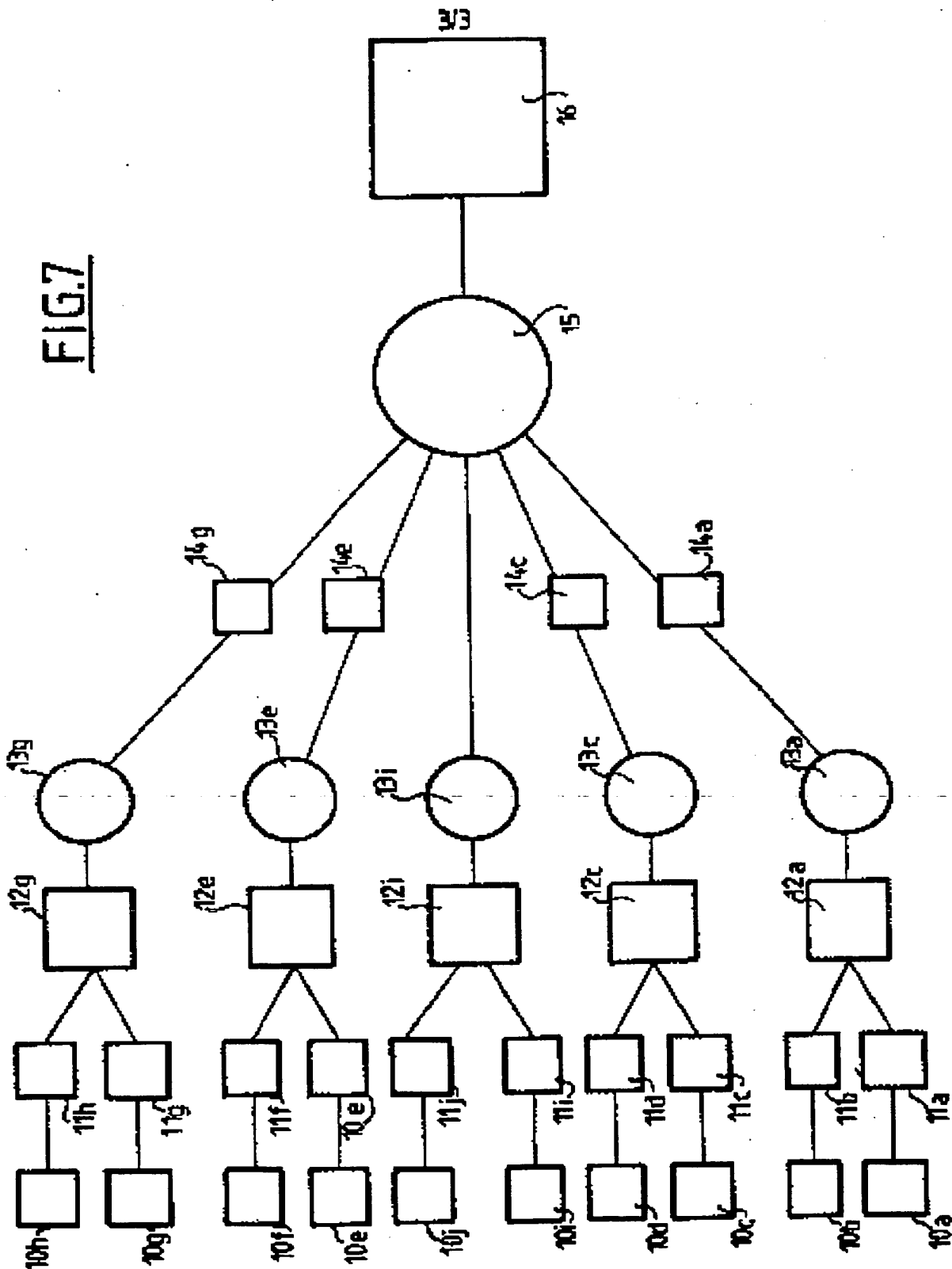


FIG. 7

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**